Aus dem Fachbereich 3 – Klinikum Charlottenburg –
der Freien Universität Berlin
Wissenschaftliche Einrichtung 6 – Pathologie –
Labor für Elektronenstrahl- und Ultrastrukturforschung

ÜBER DIE ULTRASTRUKTUR DES RATTENOESOPHAGUSEPITHELS[1] WÄHREND DER ONTOGENESE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Kober
aus Bischofswerda

[1] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548901_0025

Aus dem Fachbereich 3 – Klinikum Charlottenburg –
der Freien Universität Berlin
Wissenschaftliche Einrichtung 6 – Pathologie –
Labor für Elektronenstrahl- und Ultrastrukturforschung

ÜBER DIE ULTRASTRUKTUR DES RATTENOESOPHAGUSEPITHELS[1] WÄHREND DER ONTOGENESE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Kober
aus Bischofswerda

[1] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Referent: Prof. Dr. med. Rolf Herbst

Korreferent: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 7. September 1976

Z. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig 89 (1975) 3, S. 563—586

Aus dem Labor für Elektronenstrahl- und Ultrastrukturforschung, Wissenschaftliche Einrichtung 6 — Pathologie — Fachbereich 3 — Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin (Westberlin)

Über die Ultrastruktur des Rattenoesophagusepithels während der Ontogenese[1, 2]

Von

Hans-Joachim Kober

Mit 11 Abbildungen

(Eingegangen am 7. Juni 1975)

Einleitung

Zur Entwicklung des Säugeroesophagus gibt es bisher ausschließlich lichtmikroskopische Veröffentlichungen, die sich im wesentlichen mit menschlichen Oesophagi befassen (Eberth 1897, Neumann 1897, Schaffer 1904, Schridde 1908, Johnson 1910, Boerner-Patzelt 1922, Stieve 1931, Eberl-Rothe 1949, Johns 1952, Seifertova 1968).

Das zahlenmäßig begrenzte menschliche Ausgangsmaterial und die für den Histologen scheinbare „Einfachheit" des Gewebes standen der kontinuierlichen Bearbeitung — etwa in zeitlich genau abgestuften Untersuchungen — entgegen. Das Interesse konzentrierte sich denn auch mehr auf das Vorkommen von Magenschleimhautinseln, von Glycogen und Flimmerzellen im Oesophagusepithel. Die Befunde sollten eine entodermale (Neumann 1897, Schaffer 1904, Boerner-Patzelt 1922) oder ektodermale (Eberth 1897, Schridde 1908) Genese des Oesophagusepithels erklären.

Die Beschreibungen von Seifertova (1968) zu einzelnen Entwicklungsstufen des embryonalen Rattenoesophagusepithels und die Aussagen von Parakkal (1967) zum Oesophagusepithel von neugeborenen und erwachsenen Mäusen rechtfertigten den Schluß, daß sich der Oesophagus von animalischen Säugern ähnlich wie der menschliche entwickelt. Nur in zwei Punkten mußte ein Unterschied erwartet werden: Naturgemäß läuft die Entwicklung in der Ratte rascher ab und letztlich resultiert ein verhorntes anstatt des unverhornten, mehrschichtigen Plattenepithels.

Das fetale Oesophagusepithel der Ratte schien demnach hervorragend geeignet, die kontinuierliche Entwicklung mit elektronenmikroskopischen Methoden darzustellen und verallgemeinernde Aussagen für den Säugeroesophagus schlechthin zu gewinnen.

[1] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[2] Unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. R. Herbst.

Material und Methode

Weibliche Ratten (Wistar-Stamm) wurden mit einer zeitlichen Toleranz von etwa einer Stunde befruchtet. Letztlich standen für die Untersuchung vom 13. Tag nach Konzeption bis 1 Tag nach Geburt jeweils zwei Muttertiere mit ihren Feten zur Verfügung. Eine gegebenenfalls notwendig werdende Angabe von Stunden wird ausgedrückt mit $+x$, zum Beispiel: 13 Tage und 10 Stunden als 13 + 10.

Die Muttertiere wurden mit Chloroform betäubt und die den Feten entnommenen Oesophagi in 5%iger Glutaraldehydlösung, gepuffert mit 1/15 molarer Phosphatpufferlösung, fixiert. Sodann wurden die fixierten Oesophagi in drei Abschnitte unterteilt und in 2%iger Osmiumtetroxidlösung, gepuffert nach Michaelis, kontrastiert. Es schloß sich die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe und die stufenweise Einbettung in Mikropal über Styrol an.

Den bekannten Verfahren folgend, wurden zunächst Semidünnschnitte angefertigt. Ultradünnschnitte wurden mit 5%igem Uranylacetat und mit Bleicitrat nach Reynolds nachkontrastiert und mit dem Transmissionselektronenmikroskop Elmiskop I untersucht.

Befunde

13 Tage nach Konzeption zeigt der quergeschnittene Oesophagus ein zweischichtiges undifferenziertes Epithel eng von einem Fibroblastenwall (Abb. 1B) umschlossen. Durch einen breiten optisch leeren Raum von den Fibroblasten getrennt schließt sich ein Saum von undifferenzierten Mesenchymzellen an, die in einem lockereren Verband liegen und sich später zu Myoblasten differenzieren werden.

Die Epithel-Bindegewebs-Grenze wird von einem Saum epithelialer und mesenchymaler Anteile gebildet (Abb. 1B). Nur an wenigen Orten ist bereits die basale Cytoplasmamembran und die Basalmembran voll ausgebildet, dabei kommt niemals die eine Membran unabhängig von der anderen vor. Mit 14 Tagen sind beide Membranen überwiegend ausgebildet, dennoch treten am 15. Tag noch Orte auf, wo beide Membranen unterbrochen sind. Zu der Zeit haben die Fibroblasten keinen Kontakt mehr miteinander, und die frühere räumliche Ordnung ist verlorengegangen. Präkollagene Fibrillen sind allerdings erst nach 16 Tagen in der Lamina propria zu beobachten (Abb. 3B).

Am 13. Tag tragen die zylindrischen Zellen alle Zeichen geringer Differenzierung: Die Kerne sind außerordentlich groß und enthalten häufig osmiophile Nucleoli, das Chromatinmuster ist noch offen. Eine gut ausgebildete Doppelmembran trennt den Kern von dem lockeren, wenig kontrastgebenden Cytoplasma, das viele Ribosomen aufweist.

Mitochondrien befinden sich am Tag 13 in Organisation. Sie treten zunächst in Vorstufen als kleine zu Kumulationen versammelte Granula ohne erkennbare Innenstruktur und ohne äußere Doppelmembran auf. Werden die Granula größer, dann erscheinen die Doppelmembranen und später auch innere Cristae. Die Entwicklung der Promitochondrien (Abb. 1B) geht sehr rasch vor sich, denn schon nach Tag 13 + 10 sieht man Mitochondrien in gewohnter Ausbildung (Abb. 1A). Die rauhe Form des endoplasmatischen Retikulums ist mit Tag 13 ausgeprägt

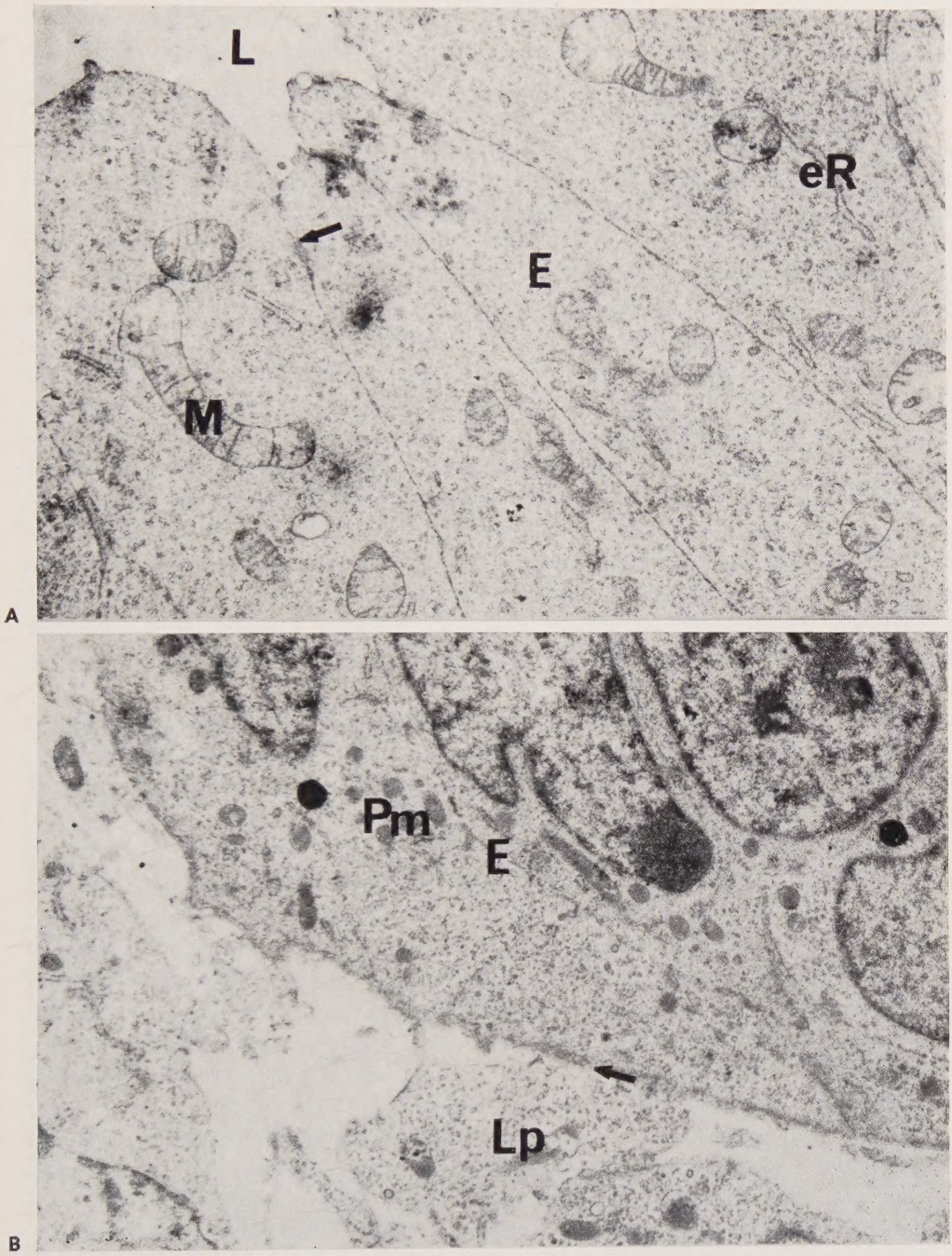

Abb. 1. Oesophagusepithel A. Tag 13 + 10. Lumen (L). Zylindrische Epithelzellen (E) mit lockerem, ribosomenreichen Cytoplasma. Zonula occludens (→), Mitochondrium (M), endoplasmatisches Reticulum (eR). Vergr.: 1:13500. B. Tag 13. Undifferenziertes Epithel (E), durch einen verdichteten Saum (→) von der Lamina propria (Lp) getrennt. Promitochondrien (Pm). Vergr.: 1:10000

(Abb. 1A) und vermehrt sich bis zum Tag 15 stark, dann ist es sehr langgestreckt. Golgiapparate dagegen werden erst mit Tag 13 + 10 sichtbar und vermehren sich auch in der Folgezeit kaum.

13 Tage post conceptionem gibt es in weiten Bereichen keine Anzeichen für das Vorhandensein von Zellgrenzen; anderenorts finden sich gewisse verstrichene Verdichtungen. Aber auch dort, wo die Zellgrenzen deutlich sind, weisen sie in kurzen Abständen immer wieder Unterbrechungen auf. Die Manifestierung der Zellmembranen macht bis Tag 13 + 10 große Fortschritte. Obwohl kaum ein von benachbarten Zellgrenzen eingeschlossener Interzellularspalt erkennbar ist, werden Zonula occludens und Zonula adhaerens beobachtet (Abb. 1A); Filamente sammeln sich nicht auf ihnen.

Ab Tag 13 + 10 verlieren die zylindrischen Epithelzellen ihre wohlgeformte Gestalt und die Kern-Plasma-Relation verschiebt sich sukzessiv zur Seite des Cytoplasmas. Zeitabhängig treten Einzelcilien an der Lumenseite auf (Abb. 2A). Ihr Vorkommen hat 14 Tage nach Konzeption ein Maximum erreicht und ist am 15. Tag geringer. Nach 17 Tagen kommen Einzelcilien nur noch ausnahmsweise vor. In Koinzidenz konnte ich einzelne Centriolen ausschließlich in lumennahen Zellen beobachten; paarige Centriolen fand ich nur selten. An den Austrittsstellen der von intrazellulären Basalkörperchen ausgehenden Cilien ist das Cytoplasma gewöhnlich invaginiert. Die innere tubuläre Struktur konnte nicht ermittelt werden. Gesichert ist, daß von den Basalkörperchen keine Wurzelfilamente in tiefere Cytoplasmaregionen ziehen (Abb. 2A).

Mitotische Teilungen wurden bis zum 15. Tag bevorzugt in lumennahen Zellen beobachtet (Abb. 3A), mit Einzelcilien behaftete Zellen teilen sich jedoch nicht. Nach dem 16. Tag finden Teilungen ausschließlich in der basalen Schicht statt (Abb. 6B).

Benachbarten Zellgrenzen dicht angelagerte stark osmiophile Verdichtungen werden erstmals am 15. Tag gesehen. Es muß sich um Prodesmosomen (Abb. 4B) handeln, deren endgültige Ausbildung zu Desmosomen erst nach dem 16. Tag beendet wird. Dann sammeln sich auch Filamente auf ihnen; zu gleicher Zeit liegen Filamente ohne Ansatz und Ursprung im Cytoplasma (Abb. 5B) oder haben sich zu kleinen Bündeln arrangiert. Das Filamentvorkommen bevorzugt keine bestimmte Zellschicht. Man geht fehl, gleichzeitig mit den Prodesmosomen etwa Pro-Halbdesmosomen an der basalen Zellgrenze von basalen Zellen anzunehmen (Abb. 4C), sie erscheinen erst nach dem 17. Tag (Abb. 5C).

Das Epithel ist am Tag 16 dreischichtig und auffallend stärker kontrastgebend als zu früheren Zeiten (Abb. 3B). Die Zellgrenzen schließen häufig polyedrische Formen ein. Das Lumen ist weiter geöffnet und angrenzende Zellen wölben sich kuppelartig hinein. In unregelmäßigen weiten Abständen gehen stummelartige Cytopodien vom Cytoplasma aus. Obwohl die Lumenseite stärker befestigt ist als früher, kommen doch manchmal noch kleine Öffnungen in der Cytoplasmamembran apikaler Zellen vor, durch die sich Matrix tropfenförmig ins Lumen absetzt (Abb. 4A).

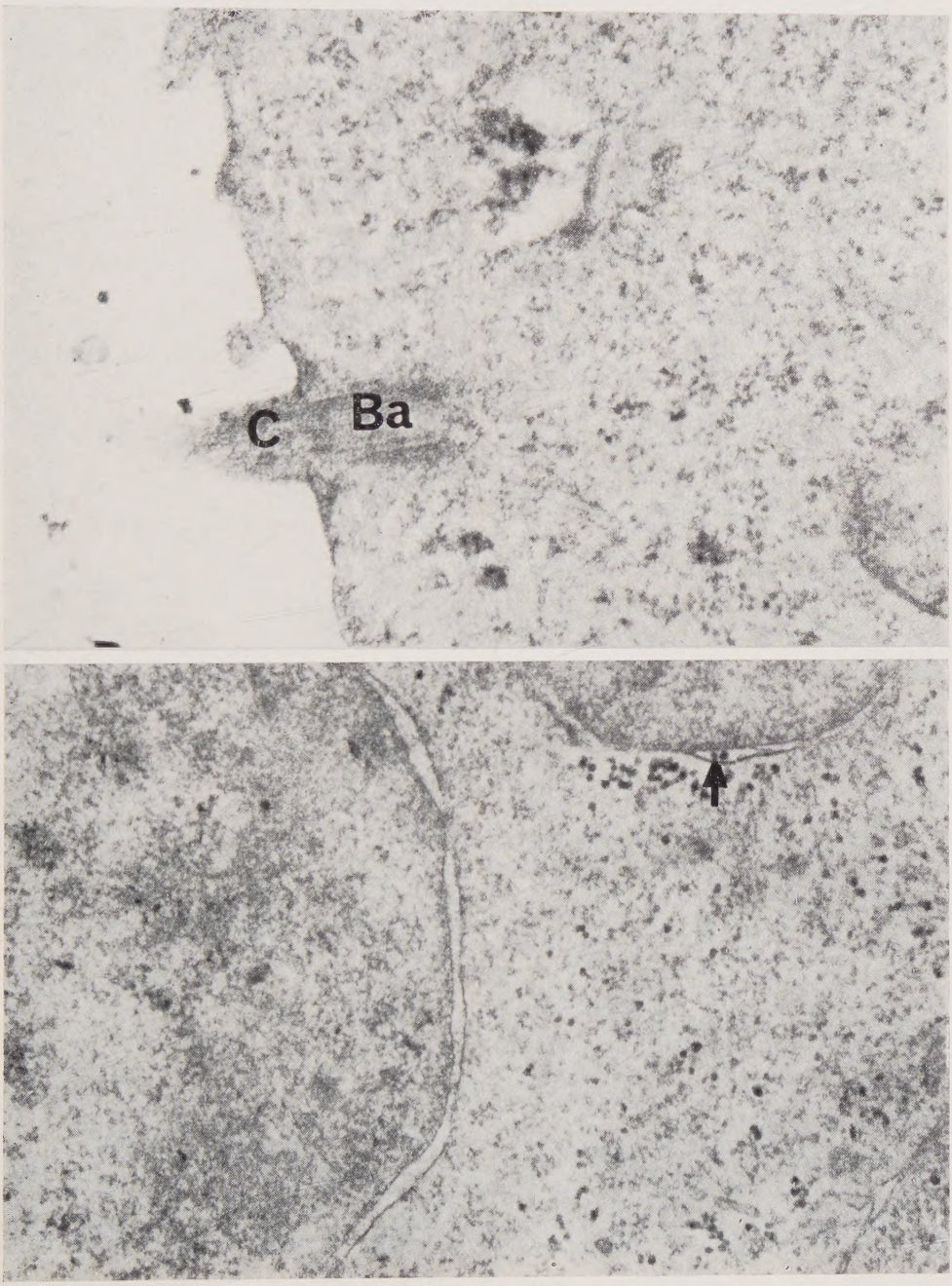

Abb. 2. Oesophagusepithel A. Tag 14. Von einem Basalkörperchen (Ba) ausgehendes Cilium (C.) Vergr.: 1:60000. B. Tag 14. Glycogenkristalle (→), im perinukleären Raum. Vergr.: 1:39000

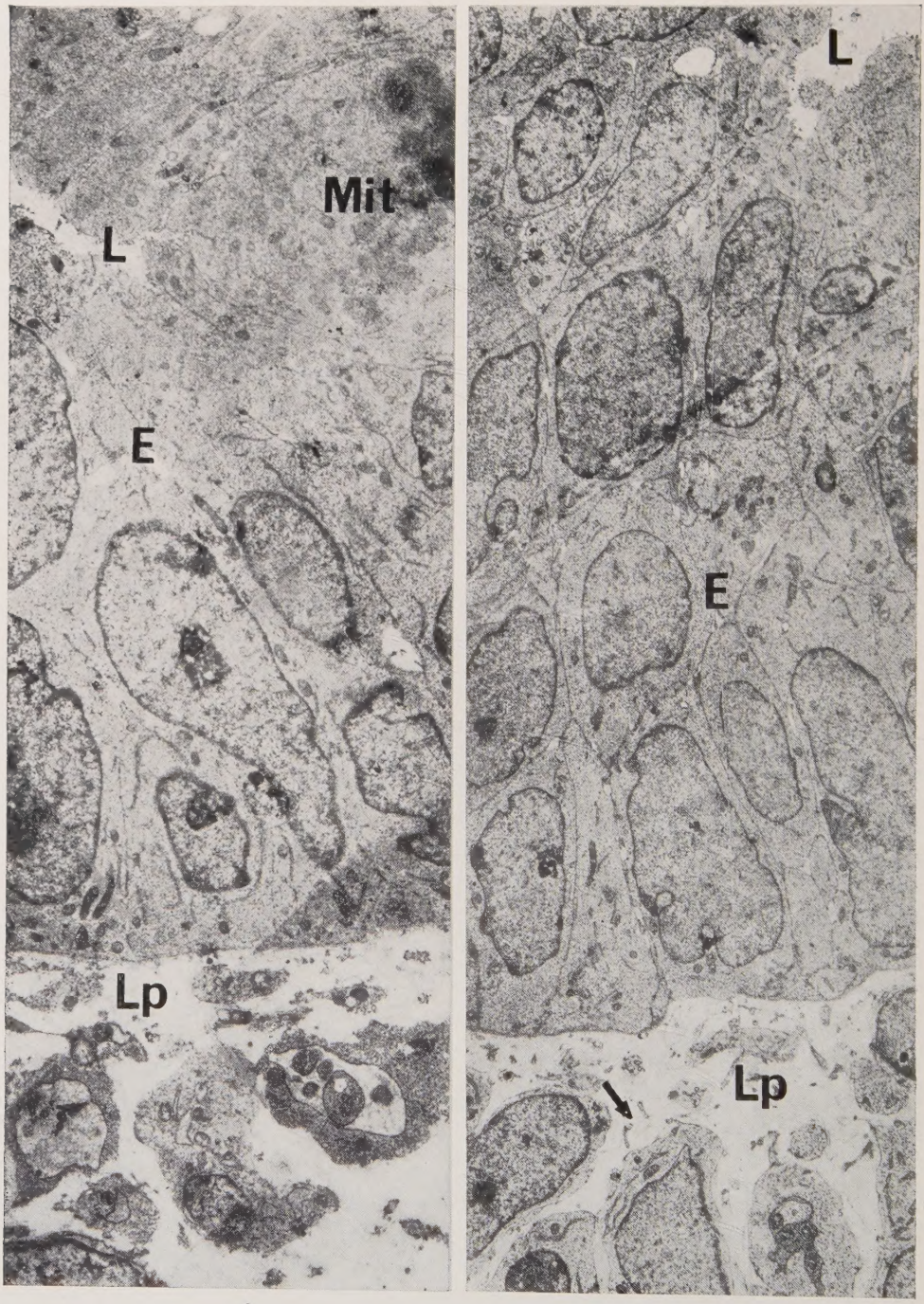

Abb. 3. Oesophagusepithel A. Tag 15. Lumen (L). Epithel (E) mit apikaler Zelle in Teilung (Mit.) Lamina propria (Lp). Vergr.: 1:4500. B. Tag 16. Dreischichtiges Epithel (E). Lumen (L). Lamina propria (Lp) mit präkollagenen Fibrillen (→). Vergr.: 1:3500

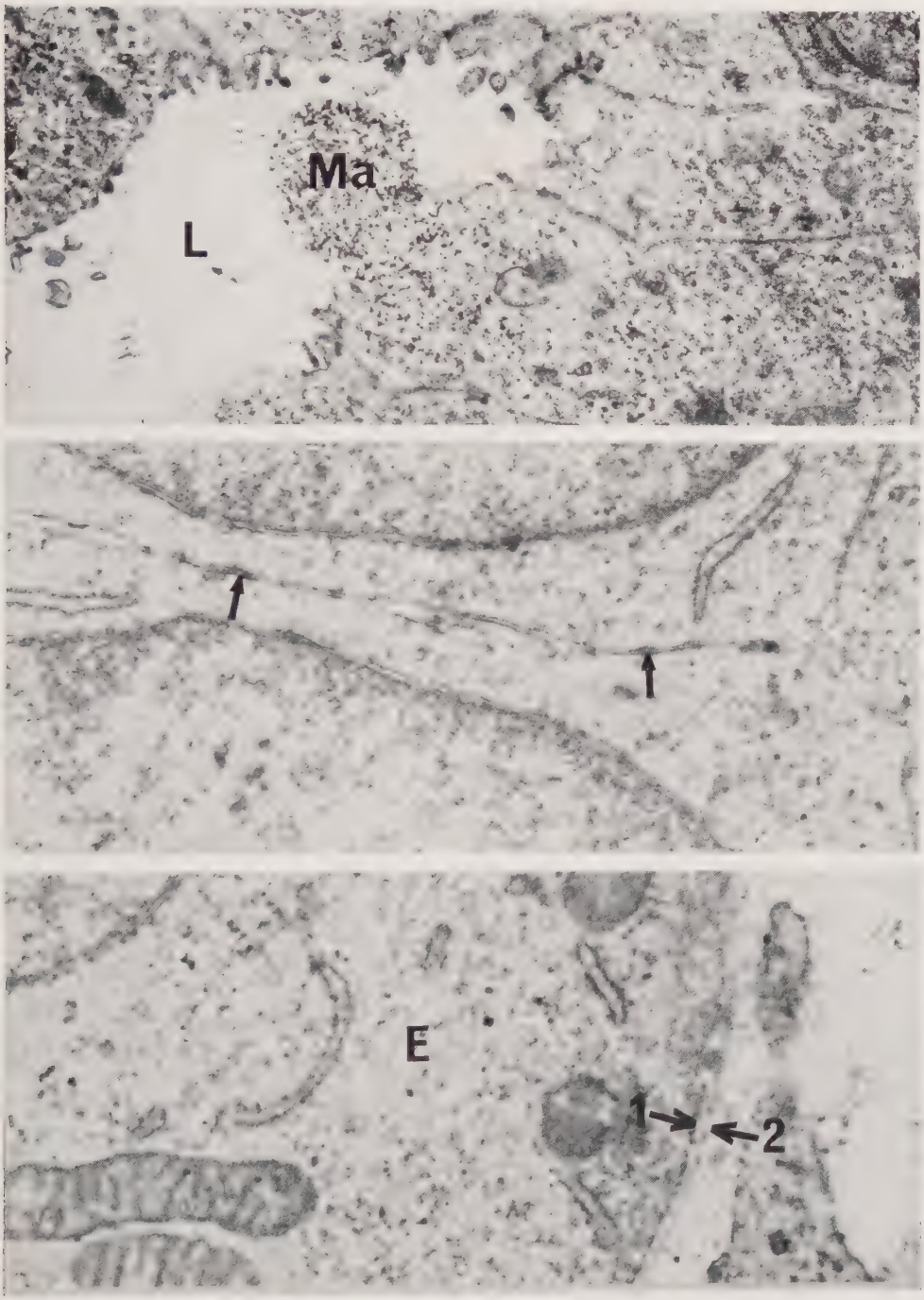

Abb. 4. Oesophagusepithel A. Tag 16. Matrix (Ma) setzt sich tropfenförmig ins Lumen (L) ab Vergr.: 1:18000. B. Tag 15. Prodesmosomen als Kontaktstellen zweier Zellen (→). Vergr.: 1:26000 C. Tag 16. Ausschnitt einer basalen Epithelzelle (E). Keine Halbdesmosomen an der Zellgrenze (→1). Basalmembran (→2). Vergr.: 1:10000

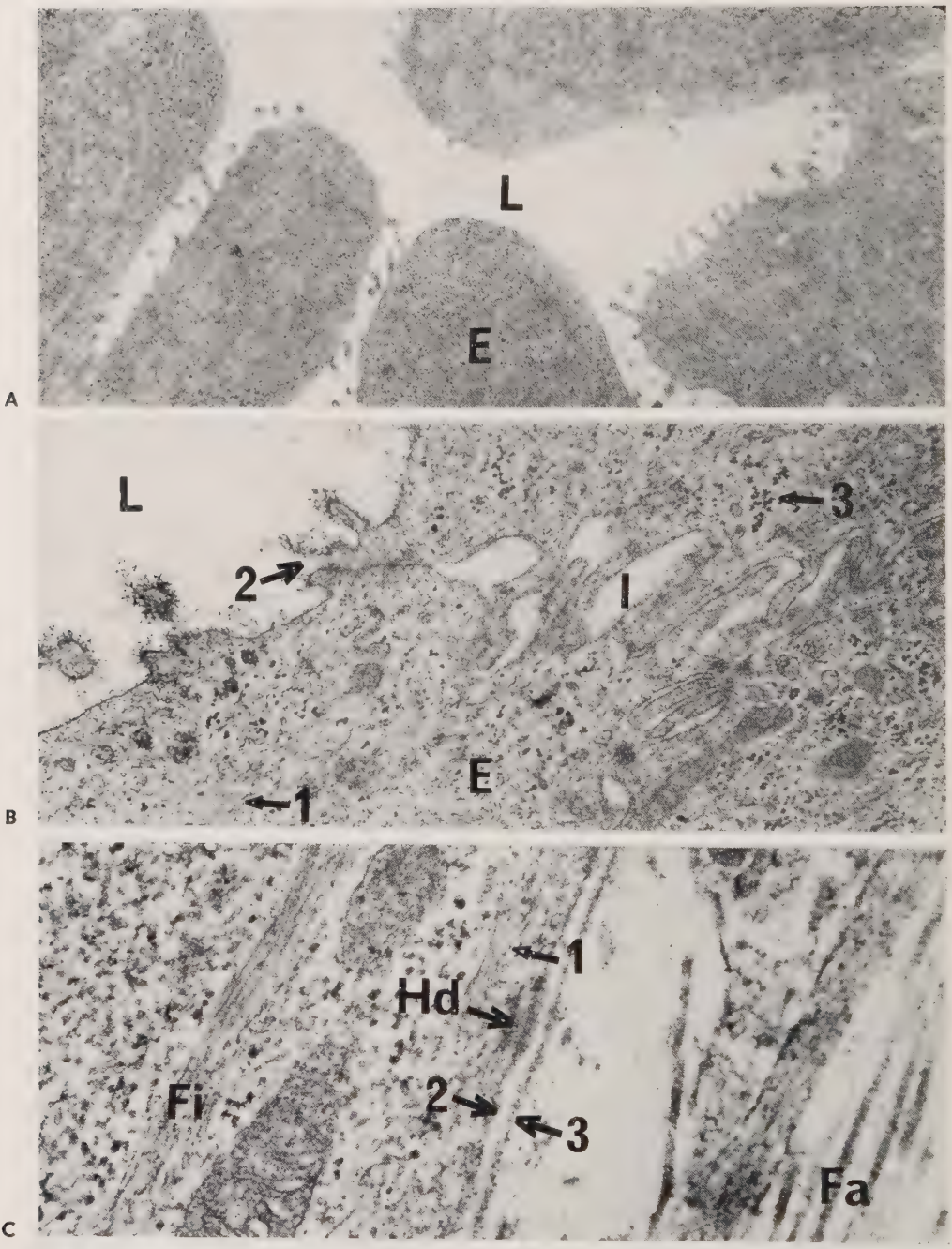

Abb. 5. Oesophagusepithel A. Tag 17. Epithelzellen (E) haben sich auf weite Abschnitte voneinander gelöst, das Lumen (L) erscheint sternförmig. Vergr.: 1:10000. B. Tag 18 + 10. Lumen (L). Epithel (E). Filamente (→ 1), Glycocalix (→ 2), einzelne Glycogenkristalle (→ 3), Interzellularspalt (I). Vergr.: 1:25000. C. Tag 18 + 10. Fibrille (Fi), Filamente (→ 1), Halbdesmosom (Hd) an der Zellgrenze (→ 2). Basalmembran (→ 3). In der Lamina propria kollagene Fibrillen. (Fa) Vergr.: 1:55000

Während des 17. Tages nach Konzeption findet eine Zäsur im Epithel statt: Lumennahe Zellen haben sich weitgehend von ihren Nachbarn getrennt und liegen mit ihrem Zelleib teilweise frei im Lumen, dadurch kommt ein sternförmiges Bild zustande (Abb. 5A). Das Auseinanderreißen der Zellen ist ein kurzfristiger Prozeß mit dem Zweck, optimale Beweglichkeit für die notwendige Umformung der zylindrischen Zellen zunächst zu runden (Abb. 6A), dann zu plattenförmigen Zellen zu schaffen. Die Veränderungen in der apikalen Schicht wirken sich auf tiefere Schichten so aus, daß größere Interzellularräume entstehen, in die hinein vom Cytoplasma wenige finger- oder tropfenförmige Fortsätze vorgeschoben sind.

Nach 18 Tagen werden kuppelartig ins Lumen vorspringende Zelleiber nicht mehr gesehen, vielmehr hebt sich das Cytoplasma plateauartig aus dem Zellverband heraus (Abb. 6B). In anderen Präparaten ist der Umorientierungsprozeß schon vollständig abgeschlossen (Abb. 7B) und die breiten Interzellularräume haben sich zurückgebildet. Die lumenseitigen Zelloberflächen sind eher glatt und bilden nur wenige Cytopodien, erst nach dem 19. Tag sind diese reichlich und regelmäßig vorhanden. Jedenfalls wird die lumenseitige Epitheloberfläche nach der Umorientierung von einer Kumulation kurzen fädigen Materials überlagert (Abb. 5B). Diese sogenannte Glycocalix kann bis zum 21. Tag eine erstaunliche Dicke und Osmiophilität erlangen (Abb. 9B).

Glycogenkristalle treten vereinzelt bis zum 17. Tag auf — manchmal auch im perinukleären Raum (Abb. 2B). 18 Tage nach Konzeption ist eine Schichtabhängigkeit des Glycogens nachzuweisen. Nur in apikalen Zellen werden größere Glycogendepots gefunden (Abb. 7A). Bis zum 20. Tag erfolgt eine weitere Anreicherung (Abb. 8B). Dabei werden Organellen in die Randzonen des Cytoplasmas abgedrängt und in ihrer Zahl vermindert (Abb. 7A). Mitunter sind Kristalle auch im interzellulären Raum auszumachen. Jenseits des 20. Tages wird das Glycogen stark reduziert, so daß direkt nach der Geburt nun mehr sehr wenige Kristalle verstreut im Cytoplasma der Zellen aller Schichten liegen.

Die flachen apikalen Zellen haben 20 Tage nach Konzeption eine wesentlich geringere Osmiophilität als lumenseitige Zellen früherer Zeiten und als Zellen tieferer Schichten derselben Zeit (Abb. 8A). Auffällig ist auch die Kernarmut in der oberflächlichen Schicht. Es werden verdämmernde Kerne beobachtet, die sehr klein sind und verstrichene Membranen haben. Das Chromatin hat sich überwiegend an der Peripherie konzentriert. Trotz einer allgemeinen Armut an Mitochondrien und endoplasmatischem Retikulum in Zellen der lumennahen Schicht finden sich sets Golgiapparate (Abb. 9A), oft sogar mehrere. Ein räumlicher Bezug zu kleinen, wenig osmiophilen Granula wird deutlich. Diese Strukturen werden in der Literatur als Keratohyalingranula bezeichnet.

Das Lumen zeigt 22 Tage nach Konzeption die für den adulten Oesophagus typische Sternform. Das vier- bis fünfschichtige Epithel (Abb. 10) bietet hauptsächlich flache Zellen, ausgenommen davon ist nur die basale Schicht. In apikalen Zellen werden Golgiapparate nicht mehr gesehen, vielmehr scheint das Cytoplasma fast ausschließlich aus Filamenten und wenigen diffus in der Matrix verteilten

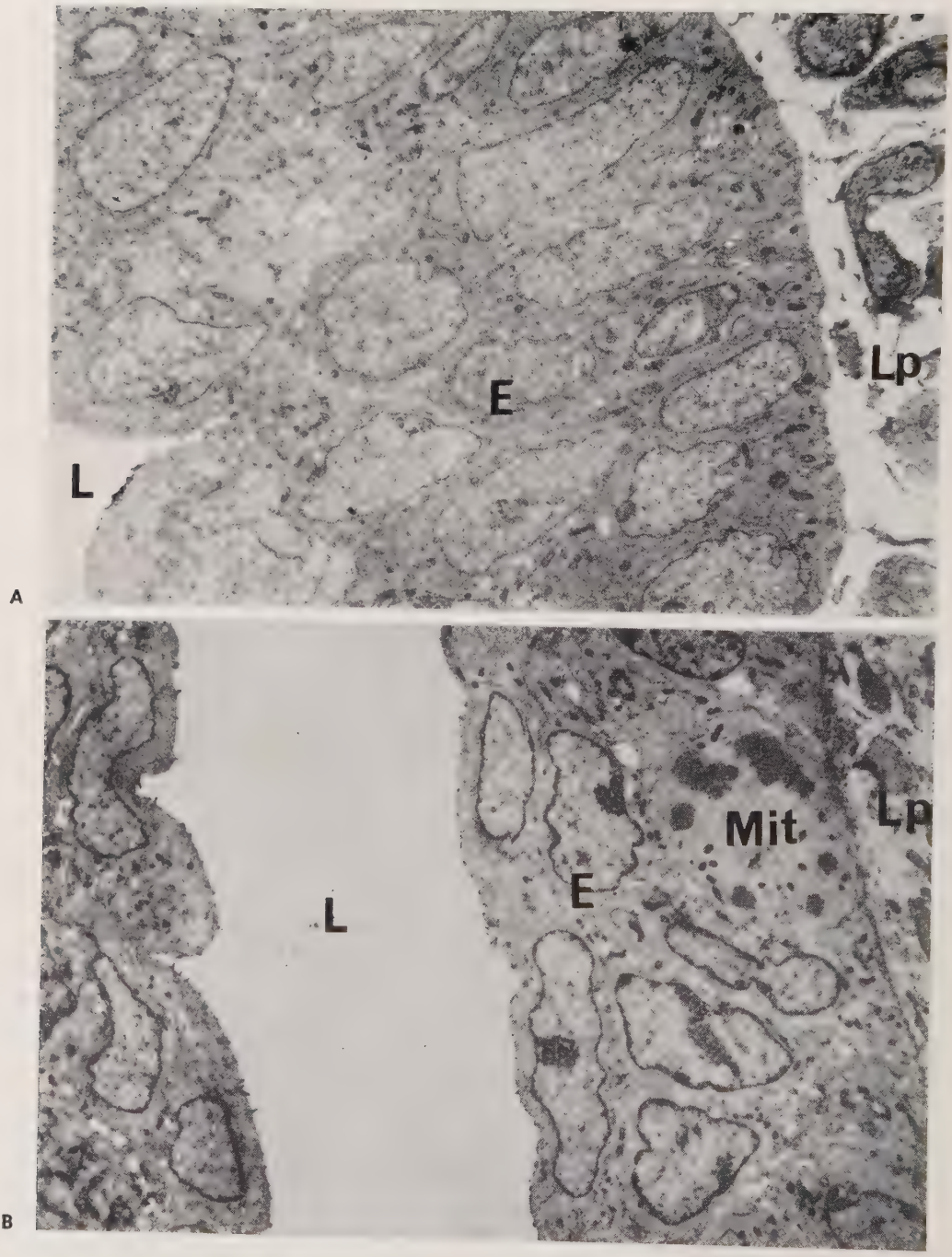

Abb. 6. Oesophagusepithel A. Tag 17. Lumen (L), Epithel (E), Lamina propria (Lp). Lumennahe Zellen sind angenähert rund. Vergr.: 1:3800. B. Tag 18. Lumen (L), Epithel (E) mit basaler Zelle in Teilung (Mit). Lamina propria (Lp). Vergr.: 1:3500

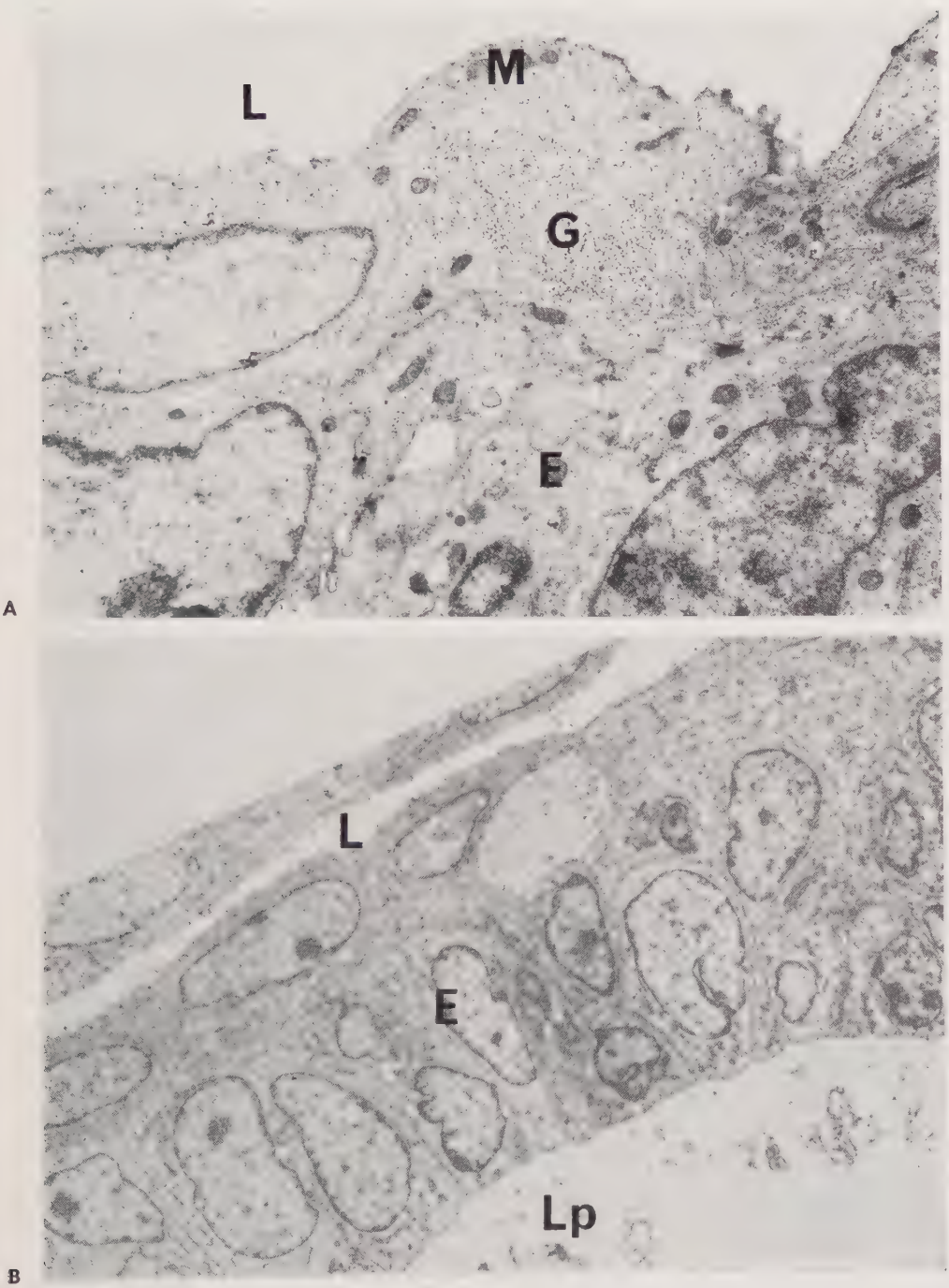

Abb. 7. Oesophagusepithel A. Tag 18. Lumen (L). Glycogenanhäufung (G) in apikaler Zelle des Epithels (E). In Randzonen abgedrängte Mitochondrien (M). Vergr.: 1:10000. B. Tag 18 + 10. Lumen (L), echtes Plattenepithel (E), Lamina propria (Lp). Vergr.: 1:2800

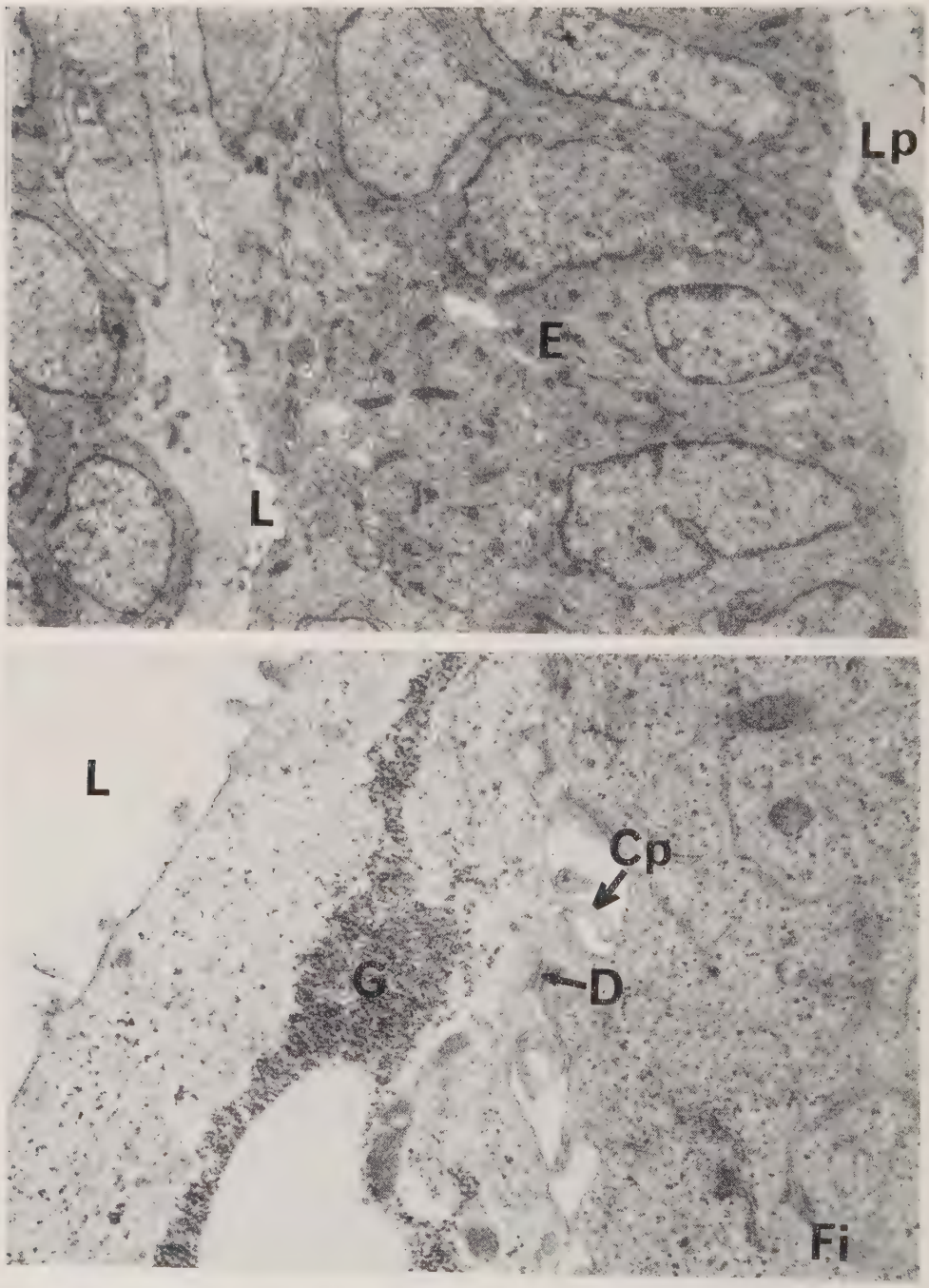

Abb. 8. Oesophagusepithel A. Tag 19 + 10. Lumen (L). Epithel (E) mit wenig osmiophilen apikalen Zellen. Lamina propria (Lp). Vergr.: 1:55000. B. Tag 20. Lumen (L). Großes Glycogendepot (G) in lumennaher Zelle. Netzartige Fibrillenanordnung (Fi). Fingerartige Cytopodien (→ Cp). Desmosom (→ D). Vergr.: 1:22000

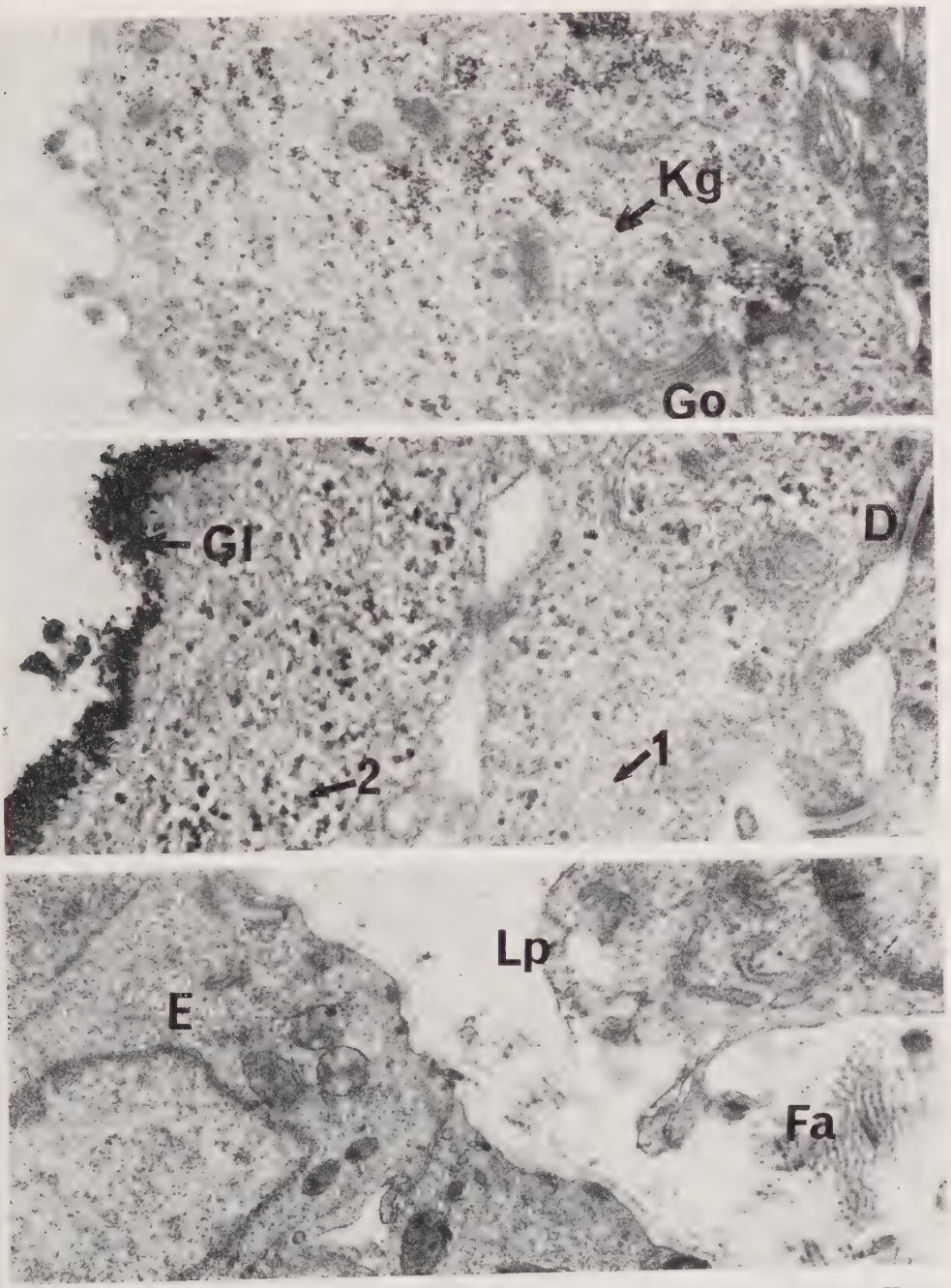

Abb. 9. Oesophagusepithel A. Tag 20. Dichte Nachbarschaft von Golgiapparat (Go) und Keratohyalingranula (→ Kg) in apikaler Zelle. Vergr.: 1:20000. B. Tag 21. Stark kontrastgebende Glycocalix (→ Gl) an der Lumenseite einer apikalen Zelle. Filamente (→ 1), Glykogenkristalle (→ 2), Desmosom (D). Vergr.: 1:50000. C. Tag 20. Epithel (E). Lamina propria (Lp) mit kollagenen Fibrillen (Fa) ohne bevorzugte Richtung. Vergr.: 1:22000

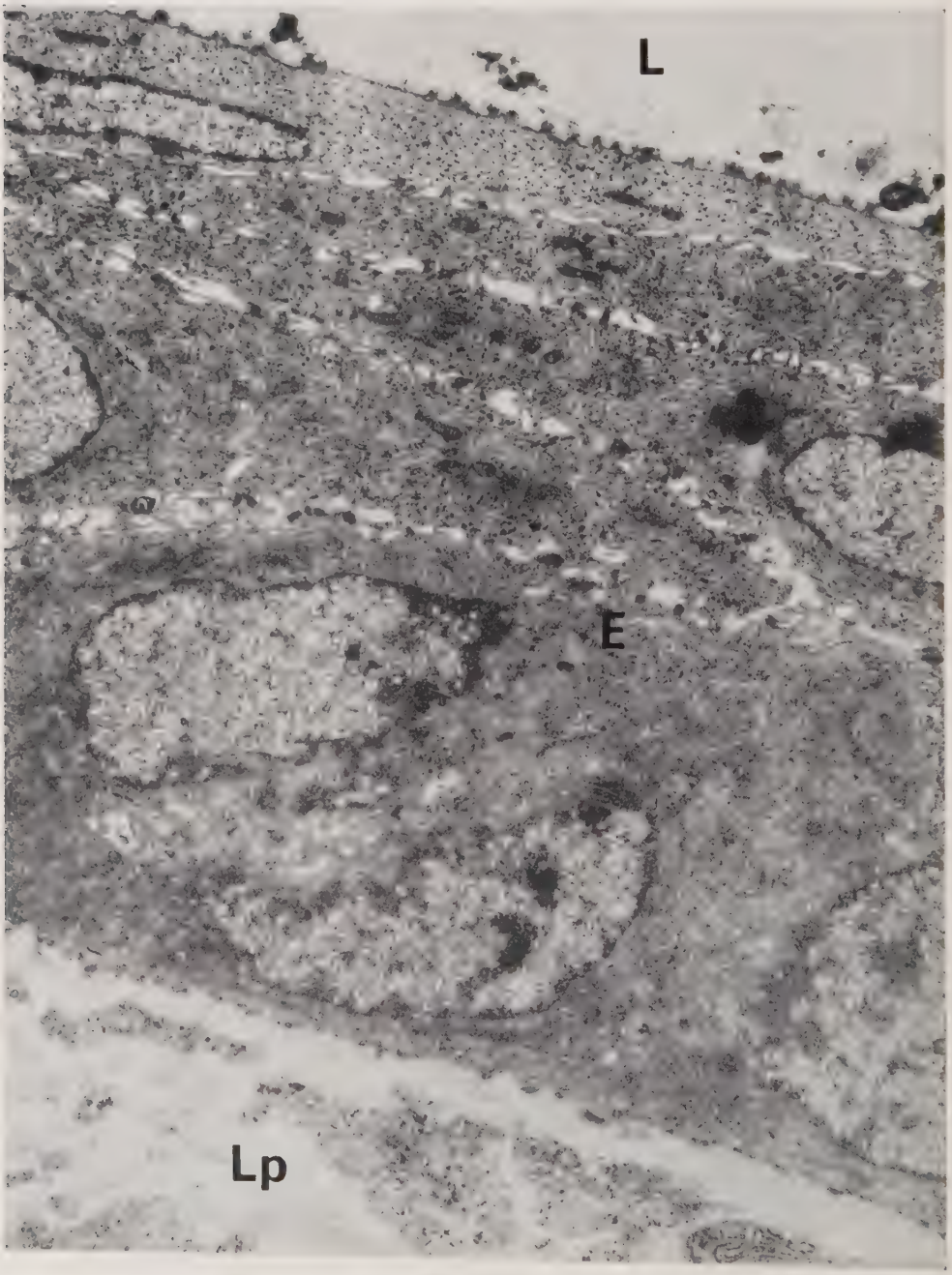

Abb. 10. Oesophagusepithel. Tag 21 + 10. Lumen (L), Epithel (E), Lamina propria (Lp). Vergr.: 1:9000

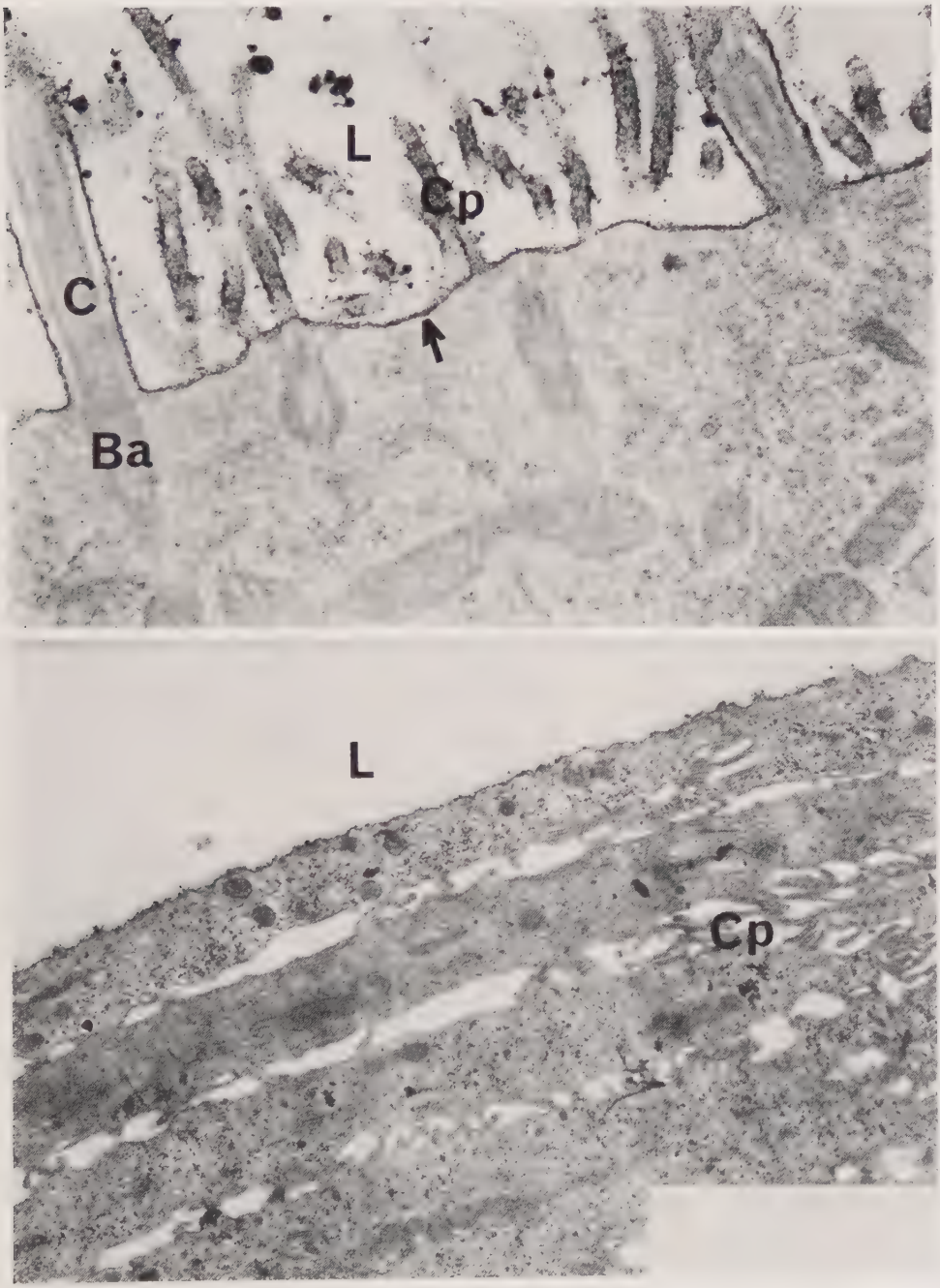

Abb. 11. Oesophagusepithel A. Tag 21. Lumen (L), Basalkörperchen (Ba), Cilium (C), glycocalixbedeckte Zellmembran (→), lange Cytopodien (Cp). Vergr.: 1:35000. B. Tag 22. Lumen (L). Schollenartige lumennahe Zellen ohne Kern, die sich voneinander ablösen. Fingerartig ineinandergreifende Cytopodien (Cp). Vergr.: 1:35000

Glycogenkristallen zu bestehen (Abb. 9B). Die Ablösung apikaler Zellen ist eingeleitet, denn basalwärts gerichtete Cytopodien haben sich weitgehend zurückgebildet und der Interzellularspalt ist verbreitert (Abb. 11B). Eine wachsende Häufigkeit von myelinkörperähnlichen Gebilden im Cytoplasma und im Interzellularspalt ist bemerkenswert; Mitochondrien können in solche Strukturen übergehen.

Vom 20. Tag der Schwangerschaft bis zur Geburt kommen in sehr geringer Zahl flimmertragende Zellen an der Lumenseite vor (Abb. 11A). Sie bevorzugen nicht eine bestimmte Region des Oesophagus und werden sowohl im proximalen als auch im distalen Bereich gesehen. Im Gegensatz zu den in Verhornung begriffenen Zellen sind flimmertragende Zellen weniger flach und langgestreckt. Sie passen sich gut in den Zellverband ein und sind durch fingerartige Cytopodien mit ihren Zellnachbarn verbunden. Von der Oberfläche streben lange Cytopodien und Cilien ins Lumen hinein. Die oberflächliche Zellmembran ist von einer Glycocalix bedeckt, selbst dort, wo die Membran Cilien begrenzt. Allerdings ist die Stärke und die optische Dichte der Glycocalix wesentlich geringer als bei verhornenden Zellen. Die Cilien gehen von Basalkörperchen aus und enthalten eine innere tubuläre Struktur nach der 9 + 2-Regel. Von den Basalkörperchen ziehen häufig Wurzelfilamente in tiefere Cytoplasmaregionen. Das Cytoplasma der flimmertragenden Zellen enthält im Gegensatz zu den verhornenden Zellen einen großen Reichtum an Mitochondrien und rauhem endoplasmatischen Retikulum. Dagegen wurden Glycogenkristalle und Filamente nicht festgestellt.

Gegen Ende der Schwangerschaft zeigt die Epithel-Bindegewebs-Grenze das vermehrte Auftreten von kleinen Buchten und Vererkerungen. Aufgrund der starken Vermehrung der bereits am 18. Tag gefundenen kollagenen Fasern kann auf eine erhöhte Festigkeit der Oesophaguswand geschlossen werden (Abb. 9C). Die von eintägigen Neugeborenen untersuchten Oesophagi bieten folgenden Eindruck: Im Lumen befinden sich abgeschilferte Zellen, die teilweise völlig kompakt erscheinen ohne irgendeine innere Struktur. Andere Zellen sind offensichtlich in Abschilferung begriffen, die interzellulären Grenzen klaffen weit auseinander und intrazelluläre Strukturen sind größtenteils zerstört. Nachdem apikale Zellen sich vollends abgetrennt haben, sieht man in dem dann dreischichtigen Epithel einen Wechsel in der Osmiophilität. Die nun lumenseitigen Zellen sind optisch dichter als darunterliegende. Ein weiterer Unterschied sollte hervorgehoben werden: Die Zellgrenzen haben sich eng aneinandergelagert und reißverschlußartig verzahnt, zudem enthält das Cytoplasma kleine stark osmiophile Granula ohne erkennbare Membranen.

Diskussion

Zellkonstituierung und Zelldifferenzierung

Zu der eingangs erwähnten Meinungsverschiedenheit über die Genese des Oesophagusepithels liefern meine Befunde folgende Diskussionsgrundlage:

Magenschleimhautinseln konnte ich in keinem Präparat feststellen. Ein Herabwachsen von der Mundhöhle (Eberth 1897, Schridde 1908) haben die in toto

längs geschnittenen Oesophagi im Lichtmikroskop nicht erkennen lassen. Elektronenoptisch konnte gesichert werden, daß plattenförmige Zellen zu gleicher Zeit von cranial bis caudal lokal durch Umformung aus Zylinderzellen entstehen. Somit wird eine entodermale Genese bestätigt (Neumann 1897, Schaffer 1904, Boerner-Patzelt 1922).

Im Gegensatz zum zweischichtigen Oesophagusepithel soll nach Kammeraad (1942) im oesophagealen Anteil des Rattenmagens noch mit Tag 14 + 12 ein einschichtiges Epithel bestehen.

Im ausgereiften Epithel sollen ausschließlich Zellen der basalen Schicht ihre Teilungsfähigkeit bewahren (Marques-Pereira und Leblond 1965, Mercer 1961).

Zu dem Vorkommen von Mitosen im fetalen Rattenoesophagusepithel muß geschlossen werden, daß Zellen aller Schichten zumindest bis zum 16. Tag nach Konzeption potentiell teilungsfähig bleiben. Erst später finden Teilungen ausschließlich in basalen Zellen statt.

Ich beobachtete zu keiner Zeit der Entwicklung abgeschilferte Zellen im Lumen. Somit bleiben alle Zellen in der intrauterinen Phase im Verband erhalten und Teilungen erfolgen mit dem Zweck, ein Mengenwachstum der Zellen und damit ein Größenwachstum des Oesophagus zu erreichen. Da lumennahe Zellen ihre zunächst gegebene Teilungsfähigkeit im Entwicklungsverlauf einbüßen, lassen sich drei Stufen des Zellzuwachses postulieren:

1. Während der Fetalzeit vom 13. Tag bis zur Geburt fügt ein Steuerungsprozeß in allen Schichten dem jeweiligen Alter entsprechend neue Zellen hinzu. Dabei werden basale Zellen mit steigender Tendenz auch für die Vermehrung der Zellzahl in anderen Schichten zuständig. Die Migration von Zellen aus der basalen Schicht zur Lumenseite soll durch Populationsdruck erzwungen werden (Marques-Pereira und Leblond 1965).

2. Beim Epithel der juvenilen Ratte wird der Steuerungsprozeß durch einen als Störgröße aufzufassenden Verlust lumennaher Zellen komplexer.

3. Erst im reifen Epithel wird ein Gleichgewicht zwischen abschilfernden und neugebildeten Zellen ständig angestrebt. Somit liegt ein rückgekoppeltes Regelungssystem vor, das die absolute Zellzahl konstant hält. Mercer (1961) nimmt dafür ein Inhibitorsystem an.

Nach Marques-Pereira und Leblond (1965) differenzieren sich nur solche Zellen, die aus der basalen Schicht abwandern. Nach meinen Befunden findet bis zum 16. Tag keine bemerkenswerte Differenzierung statt und die Leistungen der Zellen sind auf ihre Konstituierung und die Vermehrung ihrer Organellen ausgerichtet.

Fawcett (1955), Lever (1956), Robertson (1959) und David (1962) erwägen eine Mitochondriengenese durch Teilung vollentwickelter Mitochondrien, durch Bildung aus Golgiapparaten, durch Einstülpen der interzellulären Doppelmembran oder durch Ausstoßen junger Mitochondrien aus voll organisierten. Nach meinen Beobachtungen sind alle diese Möglichkeiten im Epithel 13 Tage nach Konzeption

ausgeschlossen. Das Auftreten von Granula ohne innere Cristae und selten mit einer äußeren Doppelmembran stützt vielmehr die Theorie von Klug (1966), der eine Entwicklung der Mitochondrien aus Mikrobodies und Promitochondrien annimmt. Die Genese würde demnach mit der Ansammlung einer „mitochondriogenen" Substanz im Cytoplasma beginnen. Diese soll sich zu einem Promitochondrium organisieren. Später sollen zunächst äußere Doppelmembranen und dann innere Cristae gebildet werden. Voll entwickelte Mitochondrien sah ich während der weiteren Entwicklung des Rattenoesophagusepithels, wobei Promitochondrien mit abnehmender Tendenz auftraten.

Das Auftreten von Desmosomen muß auch als Ergebnis einer Entwicklungskette gesehen werden, die etwa 15 Tage nach Konzeption mit der Kumulierung elektronendichten Materials an der Zellgrenze beginnt. Schon in diesem Stadium sind die von mir als Prodesmosomen bezeichneten Elemente paarig angelegt. Welche Bedingungen Desmosomen entstehen lassen, konnte ich nicht klären. Allerdings scheinen es nicht dieselben zu sein, die Halbdesmosomen hervorbringen. Letztere lassen keine längerdauernde Genese erkennen. Sie treten erst zu Beginn des 18. Tages auf — gleichzeitig mit Filamenten und Fibrillen.

Nach Seifertova (1968) soll mit dem 17. Tag das Plattenepithel entwickelt sein; ich möchte mehr den 18. Tag als Zeitpunkt nennen. Zunächst werden die Voraussetzungen für eine lokale Umwandlung lumennaher zylindrischer in lumennahe plattenförmige Zellen geschaffen: Apikale Zellen trennen sich voneinander und breite Interzellularräume bilden sich. Dann wird eine sukzessive Umwandlung vollzogen — eine Zwischenstufe ist notwendigerweise die Kugelform — obwohl theoretisch auch eine 90-Grad-Drehung der Zylinderzellen um eine fiktive zentrale Achse zu plattenförmigen Zellen führen würde. Interessanterweise erscheinen erst kurz vor diesem Umformungsprozeß Halbdesmosomen und Filamente.

19 Tage nach Konzeption weist nichts mehr auf den abgelaufenen Prozeß hin, denn die breit klaffenden Interzellularspalten haben sich zurückgebildet und man sieht wieder einen dichten Epithelverband, nun als mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel.

Es wird schwerlich mit dem Elektronenmikroskop zu klären sein, welche Faktoren den Umorientierungsprozeß einleiten. Desmosomen könnten eine Rolle spielen. Nach Stockinger (1969) sollen sie einem durch den ganzen Körper ziehenden Kommunikations- und Regelungssystem zugeordnet sein.

Im menschlichen Oesophagus geht die Umwandlung vom Zylinderepithel zum Plattenepithel in anderer Weise vor sich. Ich möchte den Unterschied in der vergleichsweise kurzen Tragezeit der Ratte begründen, obwohl auch eine generelle Verschiedenheit von verhornendem und nichtverhornendem Epithel in Betracht gezogen werden könnte.

Nach Ausbildung des Plattenepithels werden die Syntheseleistungen von der Bereitstellung teilbaren Materials zur Bildung von Keratinprecursors (Mercer 1961) verlagert und das Epithel nimmt seinen Verlauf zur Verhornung.

Seifertova (1968) sah am 20. Tag „desquamatory processes". Eine endgültige Abschilferung beobachtete ich im Rattenoesophagusepithel wie Kammeraad (1942) im oesophagealen Anteil des Rattenmagens erst nach Geburt.

Im Verlauf der intrauterinen Entwicklung gewinnt das Rattenoesophagusepithel eine Stärke von etwa fünf Schichten. Ungefähr zwei Schichten gehen bei dem Abschilferungsvorgang kurz nach Geburt verloren, womit zunächst ein dreischichtiges Epithel verbleibt. Im Gegensatz dazu beschreibt Parakkal (1967) das Oesophagusepithel der neugeborenen Maus als sechs- bis achtschichtig.

Einzelcilien, Flimmersaum und Ciliogenese

Nach Seifertova (1968) liegen 15 Tage post conceptionem in lumennahen Zellen des Rattenoesophagusepithels „ciliary elements of irregular shape" vor. Dem kann ich zustimmen und erweiternd sagen: Einzelcilien werden schon am Tag 13 + 10 gesehen. Ihre Häufigkeit erreicht am 14. Tag ein Maximum, danach werden es weniger und am 17. Tag werden die letzten gesehen.Einzelcilien treten also sehr früh während eines Übergangsstadiums in der Ontogenese auf, wenn die Zellen noch undifferenziert sind. Somit können Einzelcilien nicht in eine eventuelle spätere Bildung eines Flimmersaums einbezogen werden. Seifertova (1968) sieht einzelciliumbehaftete Zellen häufig in Degeneration; das kann ich nicht bestätigen.

Sorokin (1968) erkannte im fetalen Rattentrachealepithel Einzelcilien — „primary cilia" — ausschließlich mit einer inneren tubulären Struktur nach der 9 + 0-Regel. Einzelcilien wurden in anderen Geweben, etwa von Wheatley (1967) und Fonte (1971) beschrieben und im Zusammenhang mit einer Funktion im Mitosecyclus, bei der Gewebedetermination und der zellulären Differenzierung gedeutet.

Zwischen dem 15. und 18. Tag der Schwangerschaft will Seifertova (1968) im Rattenoesophagus ein „ciliary epithelium" gefunden haben. Zwischen dem 18. und 20. Tag sollen dann „last traces of ciliary epithelium" verschwinden. Nach meinen Befunden gibt es flimmertragende Zellen spärlich in einem begrenzten zeitlichen Bereich um den 21. Tag im Oesophagusepithel. Die gleiche Zeit gibt Sorokin (1968) für das Auftreten von Flimmerzellen in der Rattentrachea an. Zusammen mit der Aussage von Rivera (1962), daß Flimmerzellen in Säugern zeitlich parallel im Respirations- und Digestivtrakt vorkommen, muß die Beschreibung von Seifertova (1968) als unrichtig gewertet werden.

Sind nun Flimmerzellen im fetalen Rattenoesophagus selten, so treten sie im fetalen Menschenoesophagus während einer gewissen Entwicklungsphase zahlreich auf (Schaffer 1904, Seifertova 1968, Kober 1974).

Henneguy (1898) und Lenhossek (1898) erkannten schon, daß der Ciliarapparat aus den Teilen Cilium und Basalkörperchen besteht. Nicht unumstritten war die Meinung, daß Cilien Derivate der Centriolen seien. Sorokin (1968) beweist: Ausgang für die Ciliogenese sind Centriolen, die sich als Basalkörperchen unter die Zelloberfläche legen und Cilien wachsen lassen. Er hält weiterhin für erwiesen, daß „primary cilia" und Flimmersaum grundsätzlich verschiedene Einrichtungen sind. Übereinstimmend damit sollen Centriolen für Einzelcilien auf

einem direkten, für einen Flimmersaum dagegen auf einem indirekten Weg aus „fibrogranular areas" über mehrere Zwischenstufen bereitgestellt werden.

Das verstreute Auftreten von einzelnen Zellen mit Flimmersaum im Rattenoesophagusepithel 21 Tage nach Konzeption ist die Regel, allerdings werden nicht alle Kriterien von Flimmerzellen erfüllt: Die Zellen sind plattenförmig und die lumenseitige Oberfläche ist von einer — wenn auch feinen — Glycocalix überlagert; zudem treten neben den Cilien gewisse „lange Cytopodien" auf. Plattenform und Glycocalix müssen als Ausdruck des großen Einflusses des Zellverbandes auf die Einzelzelle gewertet werden.

Das Vorkommen weniger beflimmerter Zellen im Rattenoesophagusepithel erst 21 Tage nach Konzeption ist nicht gut zu verstehen, jedenfalls müssen von basalen regenerativen Zellen Tochterzellen produziert werden, die sich unterschiedlich entwickeln können — zur beflimmerten Zelle oder zur verhornenden Zelle. Durch diese Dualität ist die Möglichkeit ausgeschlossen, daß bei der Trennung des Vorderdarms in ein tracheales und ein oesophageales Rohr etwa einige für die Trachea bestimmte Zellen in den Oesophagus versprengt worden sind.

Ich möchte das Problem so erklären, daß beide Differenzierungswege prinzipiell offen stehen, allerdings würde eine Summe gewisser zeitabhängiger Gewebefaktoren die Verhornung der Zellen erzwingen. Nur bei einer Abweichung der Faktoren von der Norm würde es demnach an entsprechenden Orten zur Bildung flimmertragender Zellen kommen.

Keratinisierung

Wie komplex das Problem der Verhornung durch die vielen möglichen Variablen ist, wird deutlich an der gleichermaßen guten wie verwirrenden Darstellung der Befunde in verschiedenen Epithelien von Patzelt (1954), der man letztlich nur entnehmen kann, daß Keratohyalin, Tonofibrillen, Glycogen, Schwund der Kerne und Organellen eine Rolle spielen können.

Keratinisierung bedeutet den Übergang von Epithelzellen in Hornlamellen ohne Stoffwechselaktivität. Der Keratinisierungsbeginn liegt sicher etwa 19 Tage nach Konzeption, wenn lumennahe Zellen teilweise ihre Osmiophilität und ihre Kerne verlieren und erste Keratohyalingranula gebildet werden. Ob es jedoch direkt nach der Geburt bereits Zellen mit abgeschlossener Verhornung gibt, konnte ich nicht feststellen. In diesem Gedanken werde ich von Seifertova (1968) bestätigt, die erst im erwachsenen Oesophagus eine totale Verhornung ähnlich der in der Epidermis beschreibt.

Ein besonders reichhaltiges Auftreten von Golgiapparaten war dann deutlich, wenn auch die ersten Keratohyalingranula sichtbar wurden; zudem lagen die beiden Elemente in enger Nachbarschaft zueinander. Nach ultrastrukturellen Untersuchungen von Brody (1959) und Themann et al. (1971) sollen Hornlamellen durch Einbetten von Tonofilamenten in amorphe Keratohyalingranula entstehen. Da Tonofibrillen aus Protein mit einem hohen Cysteinanteil aufgebaut sind, sei ihre Bildung aus Glucose oder Glycogen denkbar (Themann et al. 1971).

Letztlich soll eine morphologisch vorgeschädigte Zelle durch plötzliche Dehydratation zur Hornlamelle werden (Arnold 1966). Für die von Menefee (1957) vermutete funktionale Verbindung zwischen Mitochondrien einerseits und Tonofilamenten und Keratohyalingranula andererseits konnte ich keinen Anhalt gewinnen. Vollständig verhornte Zellen enthalten keine Tonofilamente mehr (Menefee 1957).

In Zusammenhang mit der Verhornung ist vielleicht auch die von mir ab Tag 18 gefundene, mitunter erstaunlich verdichtete kontrastreiche Glycocalix an der Lumenseite wenig osmiophiler apikaler Zellen interessant. Die mögliche funktionelle Verknüpfung kann jedoch nicht interpretiert werden.

Glycogen

Das Auftreten von Glycogen wird von Montagna et al. (1952), Patzelt (1954) und Arnold (1966) mit der Verhornung in Verbindung gebracht. Tatsächlich konnte ich bei dieser Untersuchung eine auffällige Zunahme des Glycogengehalts bei beginnender Verhornung feststellen.

Seit langem sind gewisse Regeln im Vorkommen von Glycogen bekannt und beschrieben worden:

1. Zellen in mitotischer Teilung sind glycogenfrei, in Flimmerzellen kommt Glycogen nur ausnahmsweise vor und in regressiver Metamorphose verschwindet es völlig (Sundberg 1924).

2. In der Quantität des Glycogenvorkommens gibt es beachtliche Unterschiede (Jordan 1928); in fetalen Organen soll sie besonders reichhaltig, aber zu verschiedenen Stadien unterschiedlich sein (Sundberg 1924).

Die Funktion des Glycogens ist nicht einseitig mit der Verhornung in Verbindung zu bringen, dafür spricht unter anderem das wesentlich reichhaltigere Vorkommen zu bestimmten Entwicklungsstadien des menschlichen nichtverhornenden Oesophagusepithels; dort können Glycogenkristalle mitunter den cytoplasmatischen Raum fast völlig für sich einnehmen (Kober 1974).

Die Rolle bei der Verhornung könnte also lediglich ein Aspekt der Glycogenfunktion sein. Übereinstimmend mit meinen Befunden beschreiben Montagna et al. (1952) und Patzelt (1954) einen schnellen Verbrauch des Glycogens während der Verhornung. Ob das Glycogen allerdings für die Verhornung verwendet wird oder als Nebenprodukt intermediär bei der Keratinbildung auftritt, ist ungeklärt.

Die Bedeutung des Glycogens wird überwiegend in einer energieliefernden Funktion (Sundberg 1924, Jordan 1928, Montagna et al. 1952, Mercer 1961) oder in einer Funktion zur Konstanthaltung des intrazellulären Drucks (Sundberg 1924) oder einer faserbildenden Wirkung (Montagna et al. 1952) gesehen.

Zusammenfassung

Die Entwicklung des Rattenoesophagusepithels wurde kontinuierlich vom 13. Tag nach Konzeption bis einen Tag post partum untersucht.

Neben den Einzelbefunden zu verschiedenen Entwicklungsphasen ist wohl die Erkenntnis von besonderer Bedeutung, daß die oesophageale Ontogenese sich bei den verschiedenen Säugern er-

heblich unterscheiden kann. Dem wurde in der vorliegenden Literatur nicht Rechnung getragen, vielmehr betonen die Autoren vermeintliche Gemeinsamkeiten.

Die markanten Befunde während der Entwicklung sind zusammengefaßt folgende:

1. Das völlig undifferenzierte Epithel des 13. Tages entwickelt gleichzeitig Basalmembran und basale Cytoplasmamembran. Die Organellen sind in Bildung begriffen. Das Auftreten von Centriolen in lumennahen Zellen wird in Zusammenhang mit den bis zum 17. Tag vorkommenden Einzelcilien gesehen. Diese unterscheiden sich wesentlich von Cilien des Flimmersaums.

2. Das Zylinderepithel konstituiert sich bis zum 16. Tag. Nach Tag 16 werden erste spezielle Syntheseleistungen wie die Organisation von Filamenten beobachtet. Damit können keine Zellteilungen mehr in lumennahen Zellen stattfinden.

3. Am 17. Tag erfolgt abrupt ein Auftrennen der Interzellularspalten zwischen benachbarten lumenseitigen Zellen. In loco lagern sich betroffene zylindrische Zellen dann zu plattenförmigen Zellen um. Es gibt keine gravierenden zeitlichen Differenzen zwischen cranialen und caudalen Oesophagusabschnitten; damit ist eine entodermale Genese des Plattenepithels bewiesen.

4. Feinstrukturelle Veränderungen leiten etwa 19 Tage nach Konzeption die Verhornung des Epithels ein.

5. 21 Tage nach Konzeption treten sehr wenige flimmertragende Zellen verstreut zwischen den verhornenden Plattenzellen auf.

6. Schon vorgeburtlich lösen sich apikale Zellen, um post partum vollständig abgeschilfert zu werden.

Summary

The development of the epithelium of the rat esophagus was examined continuously from the 13th day post-conception until one day post-partum.

Besides the single-results at different phases of development the knowledge, that the esophageal ontogeny of different mammalians may be considerably different, is of special importance. To this matter of fact was not paid attention in present literature, but the authours accentuate common things.

The significant results during development are the following:

1. The completely undifferentiated epithelium of the 13th day at the same time develops basement-membrane and basic membrane of the cytoplasm. The organelles are under construction. Centriols in cells near to the lumen are seen in connection to the single-cilia, which occur till the 17th day of ontogeny. These essentially differ from cilia of the ciliated epithelium.

2. The cylindrical epithelium constitutes until the 16th day. Afterwards the first synthetic productivity like organisation of filaments are observed. By that superficial cells loose their capacity to divide.

3. On the 17th day intercellular spaces between neighbouring cells at the lumen abruptly rip up. In loco cylindrical cells change to squamous cells. There are no essential differences in time between cranial and caudal parts of the esophagus which proofs an entodermal genesis of the epithelium.

4. Changes in the ultrastructure at about 19 days p.c. cause the epithelium's keratinization.

5. 21 days p.c. few cilia-bearing cells scattered between the cells in keratinization are to be seen.

6. Before birth superficial cells become separated and are shed from the surface completely post-partum.

Schrifttum

Arnold, M.: Funktionsentwicklung der Magenschleimhaut des Goldhamsters. Z. Zellforsch. **71** (1966) 69—93.

Boerner-Patzelt, D.: Die Entwicklung der Magenschleimhautinseln im oberen Anteil des Oesophagus von ihrem ersten Auftreten beim Fetus bis zur Geburt. Anat. Anz. **55** (1922) 162—187.

Brody, I.: An ultrastructure study on the role of the keratohyalin granules in the keratinization process. J. Ultrastruct. Res. **3** (1959) 84—104.

David, H.: Zur Mitochondrienneubildung in den Leberzellen des Feuersalamanders (*Salamadra maculata*). Z. Zellforsch. **57** (1962) 567—571.

Eberl-Rothe, G.: Über das Vorkommen von albuminösen Drüsen im Oesophagus. Acta anat., Basel **8** (1949) 136—141.

Eberth, C. J.: Verirrtes Magenepithel in der Speiseröhre. Fortschr. Med. **15** (1897) 251—254.

Fawcett, D. W.: Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells. J. nat. Cancer Inst. **15** (1955) 1475—1502.

Fonte, V. G., R. L. Searls und S. R. Hilfer: The relationship of cilia with cell division and differentiation. J. Cell Biol. **49** (1971) 226—229.

Henneguy, L. F.: Sur les rapports des cils vibratiles avec les centrosomes. Arch. Anat. micr. Morph. exp. **1** (1898) 481—496.

Johns, B. A. E.: Developmental changes in the esophageal epithelium in man. J. Anat., London **86** (1952) 431—442.

Johnson, F. P.: The development of the mucous membrane of the oesophagus, stomach and small intestine in the human embryo. Amer. J. Anat. **10** (1910) 521—561.

Jordan, P.: Über die Bedeutung des embryonalen Glycogens, insbesondere für das Wachstum. Z. Zellforsch. **6** (1928) 558—587.

Kammeraad, A.: The development of gastro-intestinal tract of the rat. I. Histogenesis of the epithelium of the stomach, small intestine and pancreas. J. Morphol. **70** (1942) 323—351.

Klug, H.: Beitrag zum Problem der Mitochondrienvermehrung. Z. mikr.-anat. Forsch. **75** (1966) 109—122.

Kober, H.-J.: Die Entwicklung des menschlichen Oesophagus. 20. Sitzung des Berliner Arbeitskreises für Biologisch-Medizinische Rasterelektronenmikroskopie (1974).

Lever, J. D.: Cytological studies on the lymphosectoiced rat adrenal cortex: the alteration of its fine structure following ACTH administration and on lowening the NAK ratio. Endocrinol. **58** (1956) 163—180.

Lenhossek, M. von: Über Flimmerzellen. Anat. Anz. (Erg.-H.) **14** (1898) 106—128.

Marques-Pereira, J. P., und C. P. Leblond: Mitosis and differentiation in the stratified squamous epithelium of the rat esophagus. Amer. J. Anat. **117** (1965) 73—90.

Menefee, M. G.: Some fine structure changes occuring in the epidermis of embryo mice during differentiation. J. Ultrastruct. Res. **1** (1957) 49—61.

Mercer, E. H.: Keratin and keratinization in modern trends in physiological sciences. **12** Oxford/London/New York/Paris: Pergamon Press 1961.

Montagna, W., H. B. Chase, J. D. Malone and H. P. Melaragno: Cyclic changes in polysaccharides of the papilla of the hair follicle. Quart. J. micr. Sci. **93** (1952) 241—245.

Neumann, E.: Die Metaplasie des fötalen Oesophagusepithels. Fortschr. Med. **15** (1897) 366—369.

Parakkal, P. F.: An electron microscopic study of esophageal epithelium in the newborn and adult mouse. Amer. J. Anat. **121** (1967) 175—195.

Patzelt, V.: Über Tonofibrillen, Keratohyalin, Glycogen und Verhornung in der Epidermis. Acta anat., Basel **21** (1954) 349—356.

Rivera, J. A.: Cilia, ciliated epithelium and ciliary activity. **15**, Oxford/London/New York/Paris: Pergamon Press 1962.

Robertson, J. D.: The ultrastructure of cell membranes and their derivates. Biochem. Soc. Symp. **16** (1959) 3—43.

Schaffer, J.: Die oberen cardialen Oesophagusdrüsen und ihre Entstehung. Virchows Arch. path. Anat. **177** (1904) 181—205.

Schridde, H.: Über die Epithelproliferation in der embryonalen menschlichen Speiseröhre. Virchows Arch. path. Anat. **191** (1908) 178—192.

Seifertova, V. L.: A contribution to the problem of histogenesis of the esophageal epithelium in mammals. Folia morph. **16** (1968) 364—372.

Sorokin, S. P.: Reconstruction of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. J. Cell Sci. **3** (1968) 207—230.

Stieve, H.: Verhornungserscheinungen im Epithel der menschlichen Speiseröhre und der Scheidenschleimhaut. Z. mikrosk.-anat. Forsch. **24** (1931) 231—236.

Stockinger, L.: Zwischenzellverbindungen und Kontakte, Ultrastruktur und Funktion. Münch. med. Wschr. **111** (1969) 1458—1464.

Sundberg, C.: Das Glycogen in menschlichen Embryonen von 15, 27 und 40 mm. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **73** (1924) 168—246.

Themann, H., R. Ottenjahn, R. Roggel und S. E. Miederer: Ultrastruktur der Speiseröhrenschleimhaut. Z. Gastroenterol. **9** (1971) 171—184.

Wheatley, D. N.: Cilia and centrioles of the rat adrenal cortex. J. Anat. **101** (1967) 223—237.

Hans-Joachim Kober
Labor für Elektronenstrahl- und Ultrastrukturforschung
Wissenschaftliche Einrichtung 6 — Pathologie —
Fachbereich 3 — Klinikum Charlottenburg —
der Freien Universität Berlin
1000 Berlin (West) 19, Spandauer Damm 130